

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/KR04/003546

International filing date: 30 December 2004 (30.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: KR

Number: 10-2004-0036197

Filing date: 21 May 2004 (21.05.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 14 February 2005 (14.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

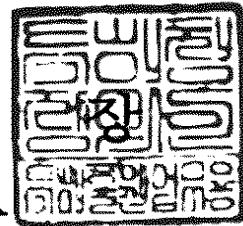
출 원 번 호 : 특허출원 2004년 제 0036197 호
Application Number 10-2004-0036197

출 원 년 월 일 : 2004년 05월 21일
Date of Application MAY 21, 2004

출 원 원 인 : 주식회사 엠디바이오알파
Applicant(s) MD Bioalpha

2005 년 1 월 14 일

특 허 청
COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허 출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0036
【제출일자】	2004.05.21
【국제특허분류】	A61K
【발명의 명칭】	크립토탄시논을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환의 예방 및 치료용 조성물
【발명의 영문명칭】	arteriosclerosis, hyperlipidemia and liver disease treatment with cryptotanshinone
【출원인】	
【명칭】	주식회사 엠디바이오알파
【출원인코드】	1-2002-014727-9
【발명자】	
【성명의 국문표기】	박명규
【성명의 영문표기】	PARK, Myunggyu
【주민등록번호】	601102-1260415
【우편번호】	449-906
【주소】	경기도 용인시 기흥읍 서천리 SK 서그네마을 APT 107동 302호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김재범
【성명의 영문표기】	KIM, Jaebum
【주소】	서울시 관악구 신림동 서울대학교 생명과학부 20동 113 호
【국적】	US
【발명자】	
【성명의 국문표기】	하주현
【성명의 영문표기】	HA, Joohun
【주민등록번호】	630827-1690215

【우편번호】 140-727
【주소】 서울특별시 용산구 이촌1동 강촌아파트 105동 52호
【국적】 KR
【취지】 특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다.
출원인 주식회사 엠디바이
오알파 (인)
【수수료】
【기본출원료】 0 면 38,000 원
【가산출원료】 19 면 0 원
【우선권주장료】 0 건 0 원
【심사청구료】 0 항 0 원
【합계】 38,000 원
【감면사유】 중소기업
【감면후 수수료】 19,000 원
【첨부서류】 1. 중소기업기본법시행령 제2조에의한 중소기업에 해당함
을 증명하는 서류_1통

【요약서】

【요약】

본 발명은 크립토탄시논을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로 더욱 상세하게는 혈중 지질의 농도를 낮추고, 간세포의 손상 및 지방간 형성을 강력히 억제하는 활성을 나타내는 다음 화학식 1로 표시되는 크립토탄시논 (cryptotanshinone)을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다

【대표도】

도 1

【색인어】

크립토탄시논 (cryptotanshinone), 동맥경화증, 고지혈증, 간질환

【명세서】

【발명의 명칭】

크립토탄시논을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환의 예방 및 치료용 조성물 {arteriosclerosis, hyperlipidemia and liver disease treatment with cryptotanshinone}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 크립토탄시논을 투여한 C57BL/6JL *Lep ob/Lep ob mice*와 대조군의 간조직을 비교한 사진이다.

도 2는 크립토탄시논을 투여한 C57BL/6JL *Lep ob/Lep ob mice*와 대조군의 각 장기 조직의 무게 비교한 그래프이다.

도 3는 정상 쥐 (B6) 와 비만 쥐 (ob/ob) 및 크립토탄시논을 투여한 비만 쥐 (ob/ob)의 간 조직에 지방의 분포를 비교한 사진이다.

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

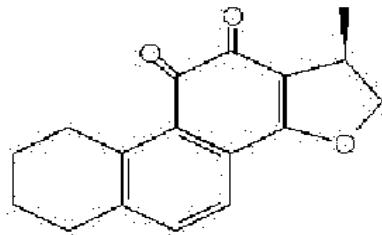
【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<4> 본 발명은 크립토탄시논을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간질환의 예방 및 치료 조성물에 관한 것으로 더욱 상세하게는 혈중 지질의 농도를 낮추고, 간세포의 손상 및 지방간화를 강력히 억제하는 활성을 나타내는 다음 화학식 1로 표시되는 크립토탄시논 (cryptotanshinone)을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

<5>

화학식1

<6>



<7> 복잡하고 다양한 스트레스가 쌓이는 현대사회에서 만성적인 알코올 섭취에 의한 환자
의 증가는 서구 선진국뿐 아니라 전 세계적으로 커다란 사회문제로 대두되고 있다.
알코올은 대부분 간에서 대사 되지만, 알코올을 처리하는 간의 능력에는 한계가 있기
때문에 이 한계를 넘어서게 되면 여러 가지 대사장애를 초래하게 된다. 즉, 과량의
알코올을 만성적으로 섭취하게 되면 세포 내 NADH/NAD⁺의 비율이 증가하여 탄수화물,
단백질 및 지질대사의 장애를 초래한다. 특히 간 조직 내에서 활발히 일어나는 지방
대사의 장애로 인하여 지방산의 산화가 억제되는 반면 지방산 합성이 증가되고, 아세
트알데히드 (acetaldehyde)의 독성에 의해 마이크로튜블 (microtubule)의 손상이 일어
나 결국 지방간이 유발되고 심하면 알코올성 간염이나 간 경화증을 일으킬 수 있다.

<8> 지방간 형성 기전은 아직 완전히 규명되지는 않았지만, 하기와 같은 몇 가지 요인들
의 조합에 의해서 유발되는 것으로 알려져 있다. 즉, 간에 축적되는 트리아실글리세
롤의 이용에 관한 에탄올 산화 작용과 호르몬의 방출 시 에탄올에 의하여 지방 조직
으로부터 간으로의 트리아실글리세롤의 이동 및 아미노산 이용률의 변화 등을 통하여
트리아실글리세롤의 운반에 필요한 충분한 지방단백질을 합성하지 못하여 유발된다.

<9> 지방성 간경화증은 간세포에 지방(트리아실글리세롤)이 침투한다는데 특징이 있다. 이러한 침투는 일반적으로 알코올과 고지방식이 또는 염소화 탄화수소의 섭취로 인해 발생하는 것이다.

<10> 한편, 지방성분이 많이 포함된 음식 또는 알코올을 과다하게 섭취하거나, B형 또는 C형 간염 바이러스 등에 감염될 경우 간 기능이 저하되고 악화될 경우 간염, 간 경변증, 간암 등을 유발하게 된다. 특히, 음식을 통하여 과다한 지방을 섭취할 경우 지방간이 유도되어 간 조직에 지질이 많이 쌓이게 되고, 또한 과도한 알코올 섭취도 지방간을 유발할 수 있다. 지방간을 보이는 환자의 경우 혈청 GOT (glutamate-oxaloacetate transaminase), GPT (glutamate-pyruvate transaminase), γ GTP (γ -glutamyl transpeptidase) 등이 증가하게 된다 (T. Banciu, et al., "The Hepatic Component in Alcoholic Encephalopathy", Med. Interne., 20, 69~71 (1982); 및 A. Par, et al., "Serum Gamma-Glutamyl Transpeptidase: Its Clinical Significance", Acta. Med. Acad. Sci. Hung., 33, 309-319 (1976)).

<11> 크립토탄시논을 함유하고 있는 단삼을 이용한 유사분야의 선행기술을 보면 다음과 같다.

<12> 대한민국특허 출원번호 10-2000-0067315에서는 단삼을 포함한 다수의 한약재 추출물을 이용하여 고지혈증과 협심증 예방 및 치료용 생약조성물을 출원하였으며 출원 번호 10-2001-0005841에서는 메탄을 추출한 단삼추출물을 사용하여 담즙성 간섬유화 억제 조성물 및 담즙성 간섬유화에 의한 간경화 치료 또는 예방용 조성물에 대하여 기술하였다. 출원번호 10-1999-0035427에서는 삼칠근과 단삼우나 혼합추출물을 유효 성분으로하는 혈압강하 및 유지가 가능한 고혈압 치료 및 콜레스테롤 저하 조성물 및

그의 제조방법에 대하여 기술하였다. LIN등은 (J pharmacol. Sci. 91, 202-210 (2003)) 사염화탄소를 주입하여 급성 간독성을 유발한 쥐에 단삼추출물을 투여하여 간독성을 중화시키는 효과를 확인하였다. Vacca 등은 (phytotherapy research 17, 537-541 (2003)) 단삼추출물이 알코올섭취에 미치는 영향을 검토하여 단삼추출물에 의하여 알코올 섭취량이 적어짐을 확인하였다.

<13> 본 발명자들은 크립토탄시논 (cryptotanshinone)이 혈중 지질의 농도를 낮추고, 간세포의 손상 및 지방간화를 강력히 억제하는 효능이 있음을 확인하여 본 발명을 완성하게 되었다.

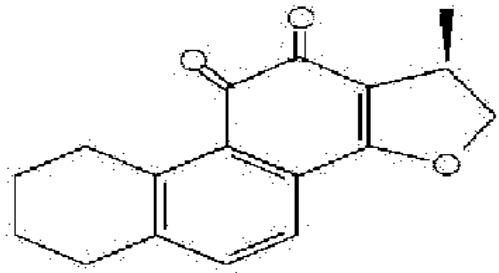
【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<14> 본 발명은 크립토탄시논 (cryptotanshinone)을 포함하는 동맥 경화증, 고지혈증 및 간 질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로 크립토탄시논 (cryptotanshinone)을 사용하여 동맥경화증, 고지혈증 및 간질환의 예방 및 치료용 약제 조성물을 제공하는 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

<15> 본 발명은 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환의 예방 및 치료용 조성물로 하기 화학식 1로 표시되는 크립토탄시논을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

<16>



<17> 상기 화학식 1로 표시되는 크립토탄시논은 간 조직에서 지방의 축적을 억제하고 간 및 혈중에서 트리글리세라이드 (triglyceride)의 함량을 낮추는 효과를 통하여 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환을 치료하게 된다.

<18> 본 발명이 유효성분으로 사용하는 상기 화학식 1로 표시되는 크립토텐시논은 생약제인 단삼을 주원료로 추출할 수 있다. 이러한 추출방법은 통상적인 것으로, 먼저 메탄올로 추출하여 감압 농축한 후, 메틸렌 클로라이드로 재추출하여 얻어진 농축 용액을 실리카 칼럼 크로마토그래피로 정제함으로써 순수한 크립토텐시논을 얻는다.

<19> 이에, 본 발명에서는 생리활성이 부여된 크립토탄시논에 대하여 비만쥐 (ob/ob mouse)에서 간세포에 지방의 축적저하와 간과 혈중에서의 트리글리세라이드 (triglyceride) 저하 활성을 측정하였으며, 그 결과 이들 화합물이 우수한 활성을 보임을 확인할 수 있다

<20> 따라서, 상기 화학식 1로 표시되는 크립토탄시논이 유효성분으로 함유되어 있는 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환 예방 및 치료제 조성물은 혈중 지질의 농도를 낮추고, 간세포의 손상 및 지방 간화를 강력히 억제하는 활성을 통하여 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환을 예방 및 치료할 수 있기 때문에 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환과 이와 관련된 각종 대사성 질병에 대한 다양한 약제로의 개발이 가능하리라 사료된다.

본 발명에 따른 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환 예방 및 치료제 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 크립토탄시논을 유효성분으로 함유하고 있으며, 여기에 약제학적으로 허용 가능한 담체와 함께 필요에 따라 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환 예방 및 치료제로 제조할 수 있다.

<21> 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방 될 수 있다. 본 발명의 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환 예방 및 치료제의 약학적 조성물은 상기 크립토탄시논을 유효 성분으로 함유 한다. 상기 크립토탄시논은 임상 투여 시에 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있다. 즉, 본 발명의 크립토탄시논은 실제 임상 투여 시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제 및 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제 및 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 크립토탄시논에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스, 락토오스 및 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제

로는 혼탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 및 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 혼탁제, 유제, 동결건조제제 및 좌제가 포함된다. 비수성용제와 혼탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤 및 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

<22> 투약 단위는, 예를 들면 개별 투약량의 1, 2, 3 또는 4배를 함유하거나 또는 1/2, 1/3 또는 1/4배를 함유할 수 있다. 개별 투약량은 바람직하기로는 유효 약물이 1회에 투여되는 양을 함유하며, 이는 통상 1일 투여량의 전부, 1/2, 1/3 또는 1/4배에 해당한다. 크립토탄시논의 유효용량은 농도 의존적이나 바람직하게는 0.1mg 내지 1g/kg이고, 더욱 바람직하기로는 0.4 내지 200 mg/kg이며, 하루 1~6 회 투여될 수 있다.

<23> 또한, 본 발명은 크립토탄시논을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간질환 예방 및 치료용 건강식품 조성물을 제공한다. 본 명세서에서 건강식품이란 일반식품에 크립토탄시논을 첨가함으로써 일반 식품의 기능을 향상시킨 식품이며, 크립토탄시논을 일반식품에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 혼탁액 등으로 제조할 수 있다. 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오고, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하였기 때문에 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등

이 없는 장점이 있다. 본 발명의 크립토탄시논을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 크립토탄시논을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합양은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 크립토탄시논을 식품 또는 음료의 제조 시에 원료에 대하여 0.0001 내지 10 중량%, 바람직하게는 0.1 내지 5 중량%의 양으로 첨가될 수 있다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하로 조절할 수 있다. 또한, 본 발명의 건강식품은 상기 약학적 조성물로 이용하는 경우는 측정된 독성 범위 내의 크립토탄시논을 함유되도록 하는 것이 바람직하다. 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 크립토탄시논을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 죠코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있다. 구체적으로, 크립토탄시논을 함유하는 건강 식품으로는 크립토탄시논을 주성분으로 만든 춥, 차, 젤리, 쥬스 등의 건강식품 및 기호품을 들 수 있으며, 부종, 신장염, 요도염 등을 목적으로 하는 민간요법제 등을 들 수 있다.

<24> 이하 본 발명을 다음과 같은 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 다음의 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이것들 만으로 한정되는 것은 아니다.

<25> 실시예 1: 크립토텐시논의 분리

<26> 단삼 (*S. militiorrhiza*) 은 안동의 한약재상에서 구입 (5 kg) 하여 재료로 사용하였으며, 그 이외의 재료들은 약재상에서 구입하거나 채집하였다. 단삼은 메탄올 50 1로 24 시간 용출시킨 후 감압 농축하였다. 여기에, 물 1500 mL를 첨가하고 동량의 n-헥산, 디클로로메탄 (CH_2Cl_2), 에틸아세테이트 (EtOAc) 를 넣어 차례로 2회 반복 추출하여 겔 (gel) 상태의 붉은색 추출물을 얻었다. 각각의 층을 대상으로 활성을 검증한 결과 디클로로메탄 층에서 활성이 가장 높았다.

<27> 실리카 겔 [Merck, Kieselgel 60, 230~460 mesh]을 100% n-헥산으로 충분히 스웰링 (swelling) 한 후 칼럼 (5*35 cm)에 패킹 (packing) 하였다. 여기에 CH_2Cl_2 층에서 얻은 50 g의 추출물을 소량의 EtOAc와 n-헥산에 녹여서 시료를 로딩 (loading) 하였다. 시료 로딩 후 충분히 용출시킨 다음 EtOAc를 10 ~ 20%로 용출하고, $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3 = 0/100 (\text{v/v}) \rightarrow 50/50 (\text{v/v})$ 으로 단계적 용출하여 크립토텐시논을 얻었다. 지방세포의 분화억제를 통하여 활성 분획을 모아 감압 농축하였다. 첫 번째 칼럼에서 활성을 보인 물질을 다시 실리카 겔 [Merck, Kieselgel 60, 230~460 mesh]을 이용하여 분리하였다. 100% n-헥산으로 스웰링 (swelling) 한 후, 칼럼 (4*25 cm)에 패킹 (packing) 하였다. EtOAc/n-헥산 = 0/100 (v/v) → 20/80 (v/v) 을 전개용매로 사용하여 얻었다. 저해활성 분획을 모아 감압 농축하였다. 그런 다음, EtOAc/n-헥산 = 30/70 (v/v) 전개용매 하에서 Prep-TLC를 수행하였다. 각 단계에서 TLC를 수행하여 각 분획의 분리 정도를 판찰하고 전개용매는 노말 페이스 (normal phase)에서 EtOAc/n-헥산 = 80/20 (v/v) 을 사용하였다. 각 물질의 검색은 아니스알데하이드 염색 용매 (5% H_2SO_4 , 2.5% 아세트산, 5% 아니스알데하이드, 87.5% 에탄올)를 사용하여 TLC 플레이트 (plate)를 핫 플레이

트 (hot plate)에서 가열하여 발색시켰다. 이상과 같은 방법으로 저해물질을 추출하고 분리 정제하였다.

<28> 실시예 2: 분리된 활성물질의 구조분석

<29> 상기 실시예 1에서 분리한 크립토텐시논의 구조를 결정하기 위하여 분자량 및 핵자기 공명 (NMR) 분석을 수행하였다.

<30> (1) 분자량 분석

<31> 질량분석기를 이용하여 고해상도 질량분석을 행한 결과, 합성된 크립토텐시논의 분자량은 296이고 분자식은 $C_{19}H_{20}O_3$ 인 것으로 판명되었다.

<32> EI-MS (m/z) : 296 (M^+) , 268 (M^+-CO) , 253

<33> (2) 핵자기공명 (NMR) 분석

<34> 1H -NMR ($CDCl_3$) : 델타 7.42 (2H, ABq, $J=8.0$ Hz), 4.83 (1H, t, $J=9.2$ Hz), 4.31 (1H, dd, $J=9.2$ and 6.0 Hz), 3.55 (1H, m), 3.17 (2H, br t), 1.65 (4H, m), 1.40 (3H, d, $J=6.8$ Hz), 1.28 (6H, s)

<35> ^{13}C -NMR ($CDCl_3$) : 델타 29.58 (C-1), 19.00 (C-2), 37.73 (C-3), 34.76 (C-4), 143.57 (C-5), 132.48 (C-6), 122.43 (C-7), 128.30 (C-8), 126.19 (C-9), 152.28 (C-10), 184.16 (C-11), 175.59 (C-12), 118.21 (C-13), 170.66 (C-14), 81.38 (C-15), 34.54 (C-16), 18.74 (C-17), 31.85 (C-18), 31.80 (C-19)

<36> (3) 물리화학적 성질

<37> 크립토텐시논의 물리화학적 성질은 다음 표 1과 같다.

<38> 외형: 오렌지분말

<39> 분자식 : C19H20O3

<40> 분자량 : 296

<41> 융점 : 190-192도

<42> 가용성 : 메탄올, DMSO

<43> 불용성 : 물

<44> 실시예 3 : **cryptotanshinone** 투여에 의한 비만 쥐 (ob/ob)에서 지방간 감소

<45> (주)대한 실험동물 센터로부터 비만의 특성을 갖고 있는 웅성 C57BL/6JL *Lep ob/Lep ob* 마우스는 10주령을 구입하였다. 온도 23도 습도 55% 조도 300-500 lux, 명암주기 12시간, 배기 10-18회 /hr의 사육환경이 유지된 사육장에서 사육하였다. 사료는 (주) 퓨리나의 실험동물 고형사료 (Purina Rodent Laboratory Chow 5001, Purina Mills, USA)를 구입하여 자유로이 공급하였으며 음용수는 수돗물을 자유롭게 섭취시켰다. 2 주간의 순화과정을 거친 후 크립토탄시논을 경구를 통하여 50mg/kg/day으로 26일 동안 14:00-16:00 사이에 투여하였다. 26일간의 투여를 마친 후 brain, liver, right subcutaneous fat (right inguinal region), epididymal fat tissues, interscapular brown adipose tissue (BAT) and skeletal muscle를 분리하여 즉시 액체질소에 넣어 얼린 후 -80도 저온 냉동고에서 다음실험을 위하여 보관하였다. 좌측의 epididymal fat pads의 무게를 측정하고 실험을 하였다.

<46> 도 1은 크립토탄시논을 투여한 C57BL/6JL *Lep ob/Lepob* 마우스의 간 조직의 사진을 나타낸 것이다. 도 1의 A는 크립토탄시논을 10주령의 ob mice에 50 mg/kg/day로

26일간 주었을 경우와 대조군과의 간 조직의 모습을 나타낸 것이다. 지방간의 경우 축적된 지방에 의하여 간 조직의 색깔이 선홍색에서 짙은 갈색으로 변화하는 것을 알 수 있으며 (대조군), 크립토탄시논이 투여된 경우 비만 쥐에서 보이던 지방간을 벗어나 선홍색의 전형적인 건강한 간의 색깔을 확인할 수 있었다.

<47> 도 2 는 크립토탄시논 투여에 의한 각 기관의 무게 비교한 것인데, 비만 쥐의 체 중감소 효과가 간과 복부지방조직에 의한 것임을 알 수 있었다.

<48> 실시예 4 : 정상 쥐 (B6) 와 비만 쥐 (ob/ob) 의 간 조직에서의 크립토탄시논의 영향

<49> 실시예 3으로부터 적출한 간을 조직학적으로 분석하여 정상쥐, 비만쥐, 그리고 크립토탄시논을 투여한 비만쥐의 간에서의 지방조직의 분포를 oil-red o 염색방법을 사용하여 지방의 분포를 확인하였다. 도 3에서 보는 바와 같이 비만쥐 대조군에 비하여 크립토탄시논을 투여한 경우에 지방에서의 지방의 축적을 현저히 줄임을 지방조직의 지방염색을 통하여 확인할 수 있어 크립토탄시논은 지방간의 예방, 치료 목적으로 사용할 수 있음을 확인하였다.

<50> 실시예 5 : 크립토탄시논 투여에 의한 쥐의 혈중 및 간에서의 중성 지방과 콜레스테롤 양 변화

<51> 실시예 3의 대조군인 비만쥐, 그리고 크립토탄시논을 투여한 비만 쥐로부터 채취한 혈액과 적출한 간을 이용하여 혈중 및 조직내의 중성지방 및 콜레스테롤의 함량을

Sigma-Aldrich (USA)의 키트를 이용하여 측정하였다. 결과는 아래의 표1과 같다. 표1에서 보는 바와 같이 중성지방과 콜레스테롤의 경우 간 조직과 혈중 수치가 현저히 감소됨을 확인하였다. 이는 크립토탄시논이 비만 쥐 (ob/ob)에 장기적으로 투여된 경우 전형적인 지방간 및 동맥경화와 같은 질환을 치료할 수 있음을 보여준다.

<52> 표 1. ob/ob mice 의 혈청 (Serum), 간 그리고 조직에서의 트리글리세라이드 (Triglyceride, TG) 및 콜레스테롤 (Cholesterol) 수준

<53>

그룹	ob/ob	Ob/ob+ cryptotanshin one
콜레스테롤(mg/dl)		
Blood	172	128
Tissue	135	112
Triglyceride(mg/dl)		
Blood	235	148
Tissue	127	95

【발명의 효과】

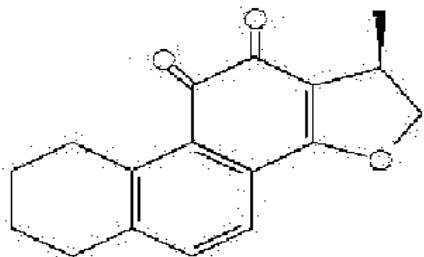
<54> 상기에서 설명한 바와 같이, 본 발명의 크립토탄시논은 간 조직에 지방의 축적을 막아주고 중성지방의 양을 효과적으로 억제하므로 크립토탄시논은 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환의 예방 및 치료에 유용하다.

<55> 또한, 크립토탄시논은 중성지방의 효과적인 억제와 간에서의 지방축적을 막아주므로 지방대사로 인하여 발생되는 각종 질병들을 예방하거나 치료할 수 있는 식품, 화장품 및 의약품 조성물로 개발될 수 있다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

하기 화학식의 크립토탄시논 (cryptotanshinone) 을 유효성분으로 하여 치료 및/또는 예방적 유효량 이상을 함유하는 동맥경화증, 고지혈증, 간 질환 예방 및/또는 치료용 조성물



【청구항 2】

단삼 (*S. miltiorrhiza*) 추출물을 유효성분으로 하여 치료 및/또는 예방적 유효량 이상을 함유하는 동맥경화증, 고지혈증, 간 질환 예방 및/또는 치료용 조성물

【청구항 3】

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서, 상기 조성물은 혈중 지질 농도에 대한 강하활성 또는 간세포의 손상 및 지방간 형성을 억제하는 활성을 나타냄을 특징으로 하는 조성물

【청구항 4】

제 1 항 내지 제 3 항에 있어서, 상기 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 혜용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 것임을 특징으로 하는 조성물

【청구항 5】

제 4 항에 있어서, 유효성분의 함량이 성인 체중 1Kg 당 0.1 ~ 6,000 mg/일 범위로 투여됨을 특징으로 하는 조성물

【청구항 6】

제 5 항의 조성물을 포함하는 동맥경화증, 고지혈증, 간 질환 예방 및/또는 치료용 제제

【청구항 7】

제 6 항에 있어서, 상기 제제는 적어도 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 것임을 특징으로 하는 제제

【청구항 8】

제 6 항 또는 제 7 항에 있어서, 상기 제제는 정제, 산제, 경질 또는 연질의 캡슐제, 혼탁제, 주사용 제제, 유화액, 비경구 투여용의 단위 투여형 또는 수회 투여형 인 것임을 특징으로 제제

【청구항 9】

제 1 항 내지 제 3 항에 있어서, 상기 조성물은 약품, 약품첨가제, 음료, 음료첨가제 또는 식품, 식품첨가제 또는 화장품, 화장품 첨가제의 형태로서 제제학적으로 허용되는 부형제를 추가로 포함하는 것임을 특징으로 하는 동맥경화증, 고지혈증, 간 질환 예방 및/또는 치료용 조성물

【청구항 10】

제 9 항에 있어서, 유효성분의 함량이 0.0001 내지 10 중량% 범위로 포함됨을 특징으로 하는 조성물

【청구항 11】

단삼 (*S. miltiorrhiza*)으로부터 a) 물 또는 유기용매 추출하여 조 추출액을 얻는 단계
b) 상기 조 추출물을 여과한 후 (감압)농축하는 단계 및 c) 선택적으로, 용매를 제거하는 단계를 포함하는 단삼 추출물 또는 크립토탄시논 (cryptotanshinone) 의 제조 방법

【청구항 12】

제 11 항에 있어서, 상기 단삼은 건조약재 또는 생약재인 것임을 특징으로 하는 제조 방법

【청구항 13】

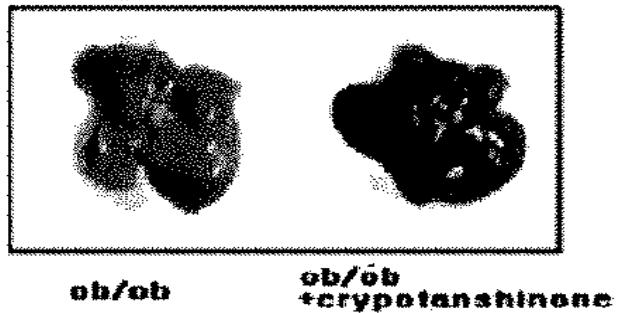
제 11 항 또는 제 12 항에 의해 제조된 단삼 추출물을 유효성분으로 함유하는 것임을 특징으로 하는 동맥경화증, 고지혈증, 간 질환 예방 및/또는 치료용 조성물

【청구항 14】

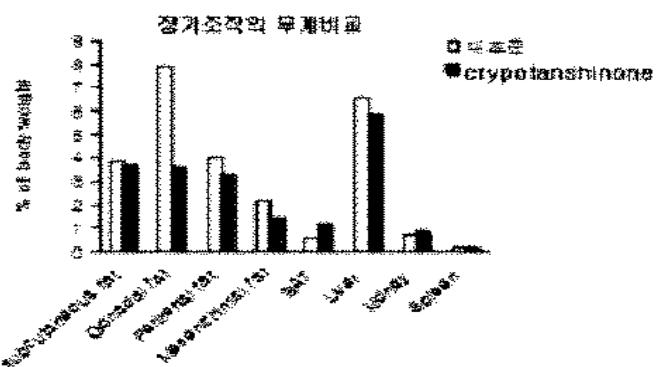
제 11 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항의 제조방법에 의해서 제조된 동맥경화증, 고지혈증, 간 질환 예방 및/또는 치료 활성 분획물

【도면】

【도 1】



【도 2】



【도 3】

